

克罗烷二萜的昆虫拒食活性及 构效关系研究*

徐建华** 尚稚珍 杨淑华 陈焕明 闵知大

(南开大学元素有机化学国家重点实验室, 天津 300071) (中国药科大学植物化学研究室, 南京 210009)

摘要 以饲料柱称重法测定 25 个克罗烷二萜新化合物对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée) 5 龄幼虫的拒食活性, 并进行构效关系分析。结果表明: 立体效应对拒食活性意义重大; C₉ 边链、C₁₈ 位的酯基对活性具有一定影响; C₄ 处的螺环氧结构看来并非活性所必需。且在 250 μg/mL 时选择法测定中, 活性最高的化合物拒食率为 57.9%, 而 500 μg/mL 时非选择法测定中拒食率为 43.2%。

关键词 克罗烷二萜, 亚洲玉米螟, 拒食剂, 构效关系

植物源克罗烷二萜 (clerodane diterpenoids) 中不少具有昆虫拒食活性, 如: Ajugarins I ~ III, Clerodin, Clerodendrins A~D, Jodrellins A, B, Scutegalin A^[1]。为了探索结构简单、易于合成、活性高的具应用前景的拒食剂, 克罗烷二萜的构效关系研究倍受关注。因选用不同的化合物和试虫, 已有结论有所不同, 但大都认为十氢萘环的构象、C₄ 上为螺环氧取代基、C₆ 和 C₁₈ 上为乙酰基对活性重要^[2~4]。在国内, 闵知大等先后由唇形科金疮小草 *Ajuga decumbens* Thunb. 中分离、提取并鉴定了 Ajugacumbins A, B, C, D, E 和 F 等新化合物^[5~6]。它们对苾麻黄蛱蝶 *Pareba xesta* F. 表现一定的拒食活性^[5]。随后, 陈焕明等对金疮小草和另一种唇形科植物铁轴草 *Teucrium quadrifarium* 进一步提取、分离, 并分别以 Ajugacumbin A 和 Teucvidin 为原料进行化学改构, 获得 38 个克罗烷二萜化合物, 且多为新结构^[7]。本文以亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée) 5 龄幼虫为试材, 对其中 25 个化合物测定拒食活性, 并定性地进行构效分析。

1 材料与方法

1.1 试虫

以人工饲料在室内累代饲养亚洲玉米螟^[8], 温度 (25±2)℃, RH80%~90%, 光照 2 000 lx。实验中选择蜕皮后 12 h 的 5 龄幼虫。

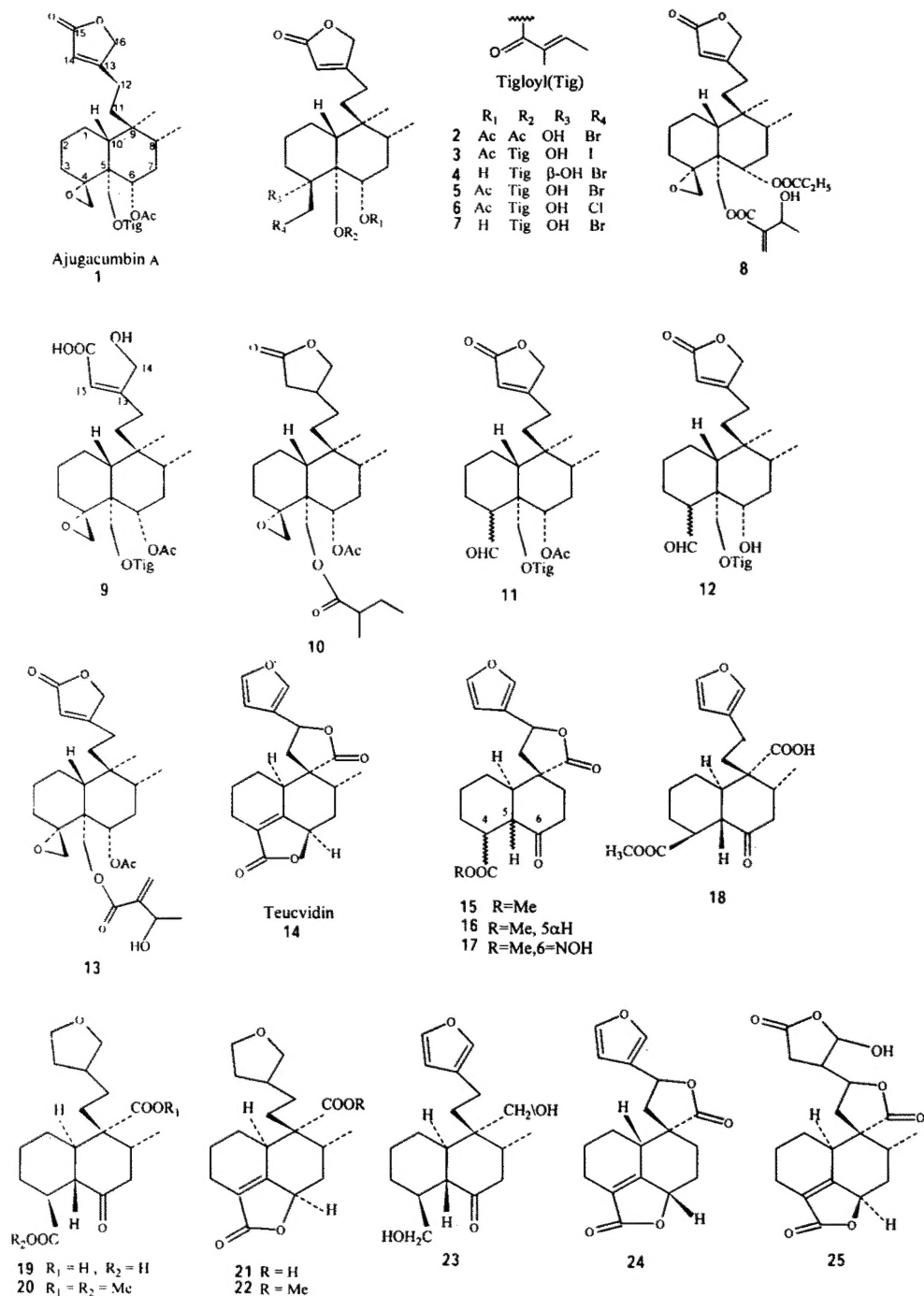
1.2 化合物

* 国家重点实验室资助项目

** 现在华中理工大学生物物理与生物化学研究所工作, 邮编 430074

1996-10-25 收稿, 1997-09-16 收修改稿

克罗烷二萜化合物均为植物提取或经衍生合成的纯品 (纯度 > 95%), 由中国药科大学提供。克罗烷二萜化合物结构式如下:



1.3 拒食活性的测定方法

1.3.1 测试饲料柱的制备: 拒食测定所用饲料的成分为: 玉米面4.8 g, 大豆面3.7 g, 琼脂0.5 g, 水35 mL。当琼脂煮溶时搅匀, 冷却。称取一定量待测化合物, 以少许乙醇溶解后加适量的上述饲料, 搅碎混匀。在90℃左右水浴中热溶成糊, 充分搅拌。再以一支两端开口的玻璃管(直径0.6 cm, 长约30 cm)吸入热饲料糊。冷凝后, 切割成约长1 cm 的均一短柱, 备用。

1.3.2 拒食活性的非选择测定法(no-choice test): 将待测化合物饲料称量后, 平放于有盖玻璃小瓶(直径1.9 cm、高4.8 cm)内, 每瓶一柱。将一头预先饥饿4 h 的5龄幼虫称重后, 放入瓶内。每处理10虫, 重复一次。空白对照为只含1%乙醇的饲料柱。在25℃黑暗状态下取食24 h 后称量剩余饲料重, 计算被取食饲料的重量与拒食率。

表1 克罗烷二萜类化合物对亚洲玉米螟
5 龄幼虫的拒食活性

化合物	选择法拒食率 (%) (250 μg/mL)	非选择法拒食率 (%) (500 μg/mL)
1	41.3 ^a	34.6 (4.9) ^b
2	7.8	5.2
3	12.3 (0.8)	26.0 (7.8)
4	34.6	20.1
5	26.3	15.1
6	57.9	43.2 (2.3)
7	36.2 (6.3)	16.3 (0.7)
8	19.0 (8.0)	15.4 (3.4)
9	3.7	-2.9 (3.1)
10	15.0 (0.4)	28.0 (6.8)
11	39.7 (5.2)	29.3
12	6.0	—
13	11.5	-4.4 (0.8)
14	26.4	36.4
15	26.9 (7.6)	43.1 (6.4)
16	26.5	2.8
17	33.9	30.2 (4.7)
18	7.5 (6.9)	0.8
19	25.3	12.7
20	25.1	16.4
21	31.1 (2.9)	21.7 (5.5)
22	15.5	9.8
23	1.1	—
24	5.3	5.4
25	2.3	-5.2

拒食率 (%) = $\frac{C-T}{C} \times 100\%$

其中, C、T 分别是对照组、处理组中被试虫取食的饲料重量。

1.3.3 拒食活性的选择测定法(choice test): 在直径3.0 cm 的小培养皿中加入已分别称重的处理饲料柱与对照饲料柱各一, 放入一头预先饥饿4 h 的5龄幼虫, 加盖封严。各药样分别处理20头虫。保持于25℃黑暗状态下取食24 h。然后分别称量剩余的对照饲料柱与处理饲料柱。计算饲料被取食重量和拒食率。

拒食率 (%) = $\frac{C-T}{C+T} \times 100\%$

其中, C、T 分别为对照饲料柱、处理饲料柱被幼虫取食的重量。

2 结果与分析

表1列出了25个被测化合物对亚洲玉米螟5龄幼虫的拒食生物活性。其中化合物6的活性最强, 在250 μg/mL 选择法测定中拒食率为57.9%, 在500 μg/mL 非选择法测定中拒食率为43.2%。化合物1, 4, 11, 15, 17, 21等表现出相对较高的活性。

在构效分析时, 依母核结构将化合物分为两组。一组包括 Ajugacumbin A 及其类似物

(1~13), 另一组为 Teucvidin 及其类似物(14~25), 为 C₁₀ (S) 构型(24)除外)。C₁₀ (S) 构型的克罗烷二萜化合物如 Teucvidin 早已发现^[9], 而昆虫拒食生物活性未见报

道。本实验表明,该类化合物对玉米螟幼虫表现与 C_{10} (R) 构型化合物相近的活性。

对化合物1~13的构效关系分析表明:(1) C_4 原子上的螺环氧取代 (spiroepoxide substituent) 似乎并非拒食活性所必需。如7~10不具有该结构,也表现较高的活性。(2) C_{18} 位酯基的重要性是一致公认的^[2~4]。本研究中,当顺芷酰基 (tigloyl, Tig) (如5) 变为乙酰基 (acetyl, Ac) (如2) 时,拒食活性大大下降。13与1的比较又表明 C_{18} 位为 Tig 比羟基化的 Tig 更有利于活性。(3) 非螺环氧结构的化合物 (2~7) 之间的比较则反映出 R_4 上卤族元素取代时,随原子基团变大,活性依次变小,即 $Cl > Br > I$ (6>5>3)。(4) C_6 原子上的取代基团 R_1 处乙酰基的作用较模糊。一方面,以羟基取代乙酰氧基 (5与4、7) 时,活性提高;另一方面,11>12,又表明乙酰氧基非常有效。

由化合物14~25的构效关系分析可知:(1) 立体效应对活性具有重要意义。在 Teucvidin (14) 与 Teucvin (24) 之间,仅 C_6 与 C_{10} 上氢的构型不同,前者为 6α , 10α -H, 显著拒食;后者为 6β , 10β -H, 无活性。事实上,两处氢原子的不同构型导致了分子立体构象的较大变化,使基团的空间排布、电势分布改变,而在生物活性上表现较大差别。(2) C_9 边链对活性有影响。19、20与15、16、17都有拒食活性,提示 C_9 、 C_{12} 之间酯化成环后对活性影响不大。而化合物18在 C_9 边链为不饱和呋喃环;19、20则为饱和结构,活性提高。这与二氢 Clerodin 的活性高于 Clerodin 相应^[4]。(3) 在立体构象基本一致时, C_4 与 C_6 之间是否构成不饱和呋喃环,对活性影响不大。如14、15与17、21均有一定活性。

3 讨论

立体效应对拒食活性的意义 (14与24) 在此获得证实。另一方面,已有构效分析均强调 *trans*-十氢萘环构象对活性的重要性^[2~4], 但本研究结果中十氢萘环为 *cis*-构象 (16) 时,也具有一定拒食活性,且 C_9 边链表现一定的影响。因此我们更赞同十氢萘环与 C_9 边链共同影响活性的观点^[4]。另外,一般认为 C_4 为螺环氧取代基非常重要^[2,4], 此处则显示该结构并非活性所必需。 C_4 为其它取代基时,拒食活性因取代基团不同而变化。Blaney 等也曾报道螺环氧结构被取代后对 *Spodoptera exempta* 等昆虫的拒食活性并无降低的情况^[4]。

研究中曾以已知拒食剂川楝素为对照,它对玉米螟5龄幼虫的选择法拒食率为 66.9% (250 $\mu\text{g/mL}$), 非选择法拒食率 63.6% (500 $\mu\text{g/mL}$), 拒食中浓度为 162.2 $\mu\text{g/mL}$ 。相比之下,克罗烷二萜的拒食活性并不强,但为构效关系分析提供了系统的数据。尤其是,植物次生物质及其衍生物的构效关系研究,国内尚无其它报道。在继续探索克罗烷二萜的构效关系规律时,我们将进一步优化结构,并增加其他试虫如粘虫、小菜蛾等测定,以了解随供试虫种不同而表现的活性差异。

参 考 文 献

- 1 Koul O. Insect antifeedants from plants. *Indian Rev. Life Sci.*, 1982, 2 (1): 97~125
- 2 Geuskens R B M, Luteijn J M, Schoonhoven L M. Antifeedant activity of some ajugarin derivatives in three lepidopterous species. *Experientia*, 1983, 39: 403~404
- 3 Belles X, Camps F, Coll J *et al.* Insect antifeedant activity of clerodane diterpenoids against larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera). *J. Chem. Ecol.*, 1985, 11: 1 439~1 445
- 4 Blaney W M, Simmonds M S J, Ley S V *et al.* Insect antifeedants; a behavioural and electrophysiological investigation of natural and synthetically derived clerodane diterpenoids. *Entomol. Exp. Appl.*, 1988, 46: 267~274
- 5 Min Z D, Wang S Q, Zheng Q T *et al.* Four new insect antifeedant neo-clerodane diterpenoids, Ajugacumbins A, B, C and D, from *Ajuga decumbens*. *Chem. Pharm. Bull.*, 1989, 37 (9): 2 505~2 508
- 6 Min Z D, Mizuno M, Wang S Q *et al.* Two new neo-clerodane diterpenes in *Ajuga decumbens*. *Chem. Pharm. Bull.*, 1990, 38 (11): 3 167~3 169
- 7 Chen H M, Min Z D, Munekazu linuma *et al.* Clerodane diterpenoids from *Ajuga decumbens*. *Chem. Pharm. Bull.*, 1995, 43 (12): 2 253~2 255
- 8 周大荣, 王玉英, 剧正理. 玉米螟人工大量饲养的研究 I: 一种半人工饲料及其改进. *植物保护学报*, 1980, 7: 113~122
- 9 Uchida I, Fujita T, Fujita E. Terpenoids- X X X IV teuvidin, a minor morditerpene from *Teucrium viscidum* var. *miquelianum*. *Tetrahedron*, 1975, 31: 841~848

INSECT ANTIFEEDING ACTIVITIES AND THEIR RELATIONSHIP WITH STRUCTURES OF CLERODANE DITERPENOIDS

Xu Jianhua Shang Zhizhen Yang Shuhua

(State Key Laboratory of Elemento-Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

Chen Huanming Min Zhida

(Laboratory of Plant Chemistry, University of Medicine of China, Nanjing 210009)

Abstract Twenty five clerodane diterpenoids were tested for antifeeding activities against fifth instar larvae of *Ostrinia furnacalis* (Guenée), and the structure-activity relationships were analyzed. Experimental results suggest that stereochemistry is important for antifeeding activity while the side chain at C₉ and acetyl group at C₁₈ exhibit certain effects, but a spiroepoxide structure at C₄ seems not important for the activity. The most potent antifeeding clerodane compound had an antifeeding ratio of 57.9% in choice test (250 μg/mL), and 43.2% in no-choice test (500 μg/mL).

Key words clerodane diterpenoids, *Ostrinia furnacalis* (Guenée), antifeedant, structure activity relationship